



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO PROFISSIONAL EM MEDICINA**

LUANA GOMES LANDEIRO

**INQUÉRITO SOROLÓGICO PARA HANSENÍASE EM
PROFISSIONAIS DE SAÚDE NO HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO CASSIANO ANTONIO MORAES -
VITÓRIA - ESPÍRITO SANTO - BRASIL**

Dissertação apresentada à
Coordenação do Mestrado
Profissional em Medicina associado à
Residência Médica do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade
Federal do Espírito Santo para
obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lucia Martins
Diniz

VITÓRIA
2014

Agradecimentos

À minha orientadora, Prof^a Lucia Martins Diniz, pela paciência, dedicação e orientação, à minha família pelo apoio incondicional, aos amigos pela companhia, a todos os professores que tive durante esses 30 anos de aprendizado, a todos os envolvidos na pesquisa, sem os quais essa tese não seria possível.

RESUMO

Introdução: A hanseníase é importante problema de saúde pública no Brasil e seus programas de controle, visando interromper a cadeia de transmissão, possuem como foco os contatos domiciliares de pacientes hansênicos. Entretanto, a importância dos contatos extradomiciliares e dos portadores de infecção subclínica vem sendo cada vez mais estudada. Os profissionais de saúde, além de estarem inseridos no mesmo contexto endêmico de seus pacientes, entram em contato, muitas vezes de forma recorrente, com pacientes portadores de hanseníase.

Objetivo: Compreender melhor a exposição dos profissionais de saúde do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes ao *Mycobacterium leprae*, através da determinação de sua soropositividade para o PGL I e da correlação desta soropositividade com diversos fatores, tais como: sexo, profissão, local de trabalho, tempo de atuação profissional, trabalho com pacientes hansênicos, existência de contato domiciliar com hanseníase, comorbidades relacionadas ao *ML-Flow* falso positivo e consumo de carne bovina, leite e derivados.

Pacientes e Métodos: Estudo transversal, descritivo, observacional e homodêmico, utilizando amostra de 300 profissionais de saúde do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes.

Resultados: Dos 300 profissionais de saúde recrutados, 296 apresentaram testes *ML-Flow* válidos e foram, portanto, incluídos no estudo. Destes 296 profissionais de saúde estudados, 83% eram do sexo feminino, 59% eram auxiliares de enfermagem, 22% eram médicos, 5% trabalhavam em ambulatórios da hanseníase, 71% exerciam suas profissões há mais de dez anos, 79% negavam haver trabalhado com pacientes hansênicos e 7% referiam contato domiciliar com hanseníase. A soropositividade para o PGL I, entre os participantes, foi de 30,7%.

Discussão e Conclusão: Além da alta soropositividade para o PGL I, identificada entre os profissionais de saúde estudados, foi determinada associação estatisticamente significativa ($p=0,001$) entre a positividade para o anti-PGL I e a presença de contato domiciliar com pacientes hansênicos. Não foi demonstrada associação entre a positividade para o anti-PGL I e os demais fatores analisados.

Palavras-chave: Hanseníase; *Mycobacterium leprae*; Profissional de Saúde; Sorologia.

ABSTRACT

Background: Leprosy is a major public health problem in Brazil, and the control programs that aim to break the chain of transmission are focused on household contact of leprosy patients. However, the importance of contact outside the home and from individuals with subclinical infections are being studied more than ever before. Health professionals, in addition to being placed in the same endemic context of their patients, come into contact, often recursively, to leprosy patients.

Objective: To better understand health professional exposure levels of *Mycobacterium leprae* at the Cassiano Antonio Moraes University Hospital, by way of determining their PGL I seropositivity and the correlation of this seropositivity to several factors, such as gender, occupation, place of work, time of practice, working with leprosy patients, presence of household contact with leprosy, comorbidities related to false positive ML-Flow and consumption of beef, milk and related products.

Patients and Methods: Cross-sectional, descriptive, observational and homodemic study methods using a sample of 300 health professionals from the Cassiano Antonio Moraes University Hospital.

Results: Of the 300 health professionals recruited, 296 had valid *ML Flow* tests and were therefore included in the study. Of these 296 health professionals studied, 83 % were female, 59 % were nursing assistants, 22 % were physicians, 5 % worked in leprosy clinics, 71 % had their professions for more than ten years old, 79 % denied having worked with leprosy patients and 7 % reported household contact with leprosy. The PGL I seropositivity among participants was 30.7 %.

Discussion and Conclusion: In addition to the high PGL I seropositivity identified among the health professionals studied, statistical analysis determined a significant association ($p = 0.001$) between positivity for anti-PGL-I and the presence of household contact with leprosy patients. We could not demonstrate an association between anti -PGL I positivity and the other factors analyzed.

Keywords: leprosy; *Mycobacterium leprae*; Health Professionals; Serology .

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 –	Modelo esquemático do envoltório celular do <i>Mycobacterium leprae</i>	20
Figura 2 –	Modelo esquemático do cartucho para realização do teste <i>ML-Flow</i> ...	42
Figura 3 –	Resultado do teste <i>ML-Flow</i> entre os profissionais de saúde atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes.....	46
Figura 4 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao sexo e ao resultado do teste <i>ML-Flow</i>	47
Figura 5 –	Histograma da idade dos 296 profissionais de saúde trabalhadores do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes.....	48
Figura 6 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação à profissão e ao resultado do teste <i>ML-Flow</i>	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultado do teste <i>ML-Flow</i> entre os profissionais de saúde atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes.....	45
Tabela 2 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao sexo e ao resultado do teste <i>ML-Flow</i>	46
Tabela 3 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação à profissão e ao resultado do teste <i>ML-Flow</i>	49
Tabela 4 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação aos locais de trabalho e ao resultado do teste <i>ML-Flow</i>	50
Tabela 5 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao tempo de atuação na profissão de saúde, ao trabalho com hanseníase e contato familiar com hanseníase.....	51
Tabela 6 –	Distribuição dos profissionais de saúde em relação à presença ou ausência de comorbidades, consumo de carne bovina, leite e derivados.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR – Artrite Reumatóide

BSA – Albumina do Soro Bovino

DII – Doenças Intestinais Inflamatórias

DMID – Diabetes Mellitus Insulino-Dependente

ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ES – Espírito Santo

HD – Hanseníase Dimorfa

HDD – Hanseníase Dimorfa-Dimorfa

HDT – Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide

HDV – Hanseníase Dimorfa-Virchowiana

HI – Hanseníase Indeterminada

HT – Hanseníase Tuberculóide

HUCAM – Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes

HV – Hanseníase Virchowiana

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

ICS – Índice de Carência Social

LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico

LM – Lipomanana

M. avium – *Mycobacterium avium*

MHC – Complexo Principal de Histocompatibilidade

M. leprae – *Mycobacterium leprae*

M. lepraemurium – *Mycobacterium lepraemurium*

ML-Flow – Teste Rápido de Fluxo Lateral para o

Mycobacterium leprae

MLPA – Teste de Aglutinação com Partícula de Gelatina

M. kansasii – *Mycobacterium kansasii*

MS – Ministério da Saúde

OMS – Organização Mundial de Saúde

PDIMs – Ácidos micocerosóicos de ftiocerol dimicocerosato

PGL – Glicolípídeo fenólico

PGL I – Glicolípídeo fenólico I

PGLs – Glicolípídeos fenólicos

PHA – Teste de Hemaglutinação Passiva

PIMs – Fosfatidilinositol manosídeos

PLs – Fosfolípídeos

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde

TMMs – Ácidos micólicos da trealose monomicolato

UFES – Universidade Federal do Espírito Santo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
2.1	CONCEITOS E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	13
2.2	O MYCOBACTERIUM LEPRAE.....	18
2.3	VIAS DE TRANSMISSÃO DA HANSENÍASE.....	21
2.4	FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE.....	25
2.5	O GLICOLÍPÍDEO FENÓLICO I.....	26
2.6	O ML-FLOW.....	31
2.7	A ALBUMINA DO SORO BOVINO.....	35
3	OBJETIVOS.....	38
3.1	OBJETIVO GERAL.....	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
4	METODOLOGIA.....	39
4.1	TIPO DE ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	39
4.2	CRITÉRIO DE INCLUSÃO.....	40
4.3	COLETA DA AMOSTRA DE SANGUE.....	41
4.4	ML-FLOW.....	42
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	43
4.6	CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	44
5	RESULTADOS.....	45
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÃO.....	60

8	REFERÊNCIAS.....	62
	APÊNDICE A.....	68
	APÊNDICE B.....	69
	APÊNCIDE C.....	71
	ANEXO A.....	72

1 INTRODUÇÃO

Apesar dos inegáveis avanços em seu tratamento e da redução mundial de sua prevalência e incidência na população, a hanseníase, doença milenar, crônica e infectocontagiosa, causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), ainda representa importante problema de saúde pública, principalmente em países em que persistem altos índices de detecção da doença.

Os programas de controle da hanseníase possuem como foco os contatos domiciliares de pacientes hansênicos, que teriam um risco maior de adquirir a doença. Porém, diversos autores vem sugerindo a importância dos contatos extradomiciliares na cadeia de transmissão. Nas sociedades industrializadas, onde os indivíduos passam grande parte de seus dias nos ambientes de trabalho, a possibilidade de infecção nestes locais também deve ser considerada.

Além disso, em locais de alta endemicidade, os portadores de infecção subclínica poderiam ter um papel importante na transmissão da hanseníase, já que a doença, muitas vezes, se manifesta em indivíduos sem contato conhecido com pacientes hansênicos.

Os profissionais de saúde, além de estarem inseridos no mesmo contexto endêmico de seus pacientes, entram em contato, muitas vezes de forma recorrente, com pacientes portadores de hanseníase, tendo estes diagnóstico conhecido ou não.

Visando compreender melhor a exposição dos profissionais de saúde ao *M. leprae*, o presente estudo determinou, através do Teste Rápido de Fluxo Lateral para o *Mycobacterium leprae* (*ML-Flow*), a soroprevalência para o glicolípido fenólico I (PGL I), antígeno específico para a hanseníase, entre os profissionais de saúde – médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem – do Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (HUCAM), localizado em Vitória (ES), município de endemicidade muito alta para hanseníase.

Adicionalmente, foram estudadas as correlações entre os resultados dos referidos testes e diversos fatores, quais sejam: sexo, profissão, local de trabalho, tempo de atuação profissional, trabalho com pacientes hansênicos, existência de contato domiciliar com hanseníase, comorbidades relacionadas com *ML-Flow* falso positivo e consumo de carne bovina, leite e derivados.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONCEITOS E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A hanseníase, doença crônica e infectocontagiosa causada pelo bacilo *M. leprae* ainda é um problema de saúde pública de repercussão mundial. Apesar de, em 2000, ter sido atingida, em nível global, uma prevalência inferior a um doente de hanseníase em 10.000 habitantes (meta estabelecida pela Assembleia Mundial de Saúde em 1991), a doença continua a ser um desafio, com cerca de 250.000 casos novos anuais e 18 países diagnosticando mais de 1000 casos por ano. Entre esses, o Brasil ocupa o segundo lugar em taxa de detecção, ficando atrás apenas da Índia (OMS, 2010; RODRIGUES e LOCKWOOD, 2011).

Embora a prevalência da doença, verificada através do número de casos registrados para tratamento, tenha apresentado uma redução considerável, o número de casos novos não teve uma redução tão significativa após a introdução mundial da poliquimioterapia, a partir de 1982 (OMS, 2010).

No Brasil, o coeficiente de prevalência de hanseníase foi de 1,51 casos por 10.000 habitantes em 2012. Comparando-se com os dados de 2004, ano em que o Brasil passou a adotar o cálculo padronizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para esse indicador e quando havia uma prevalência de 1,7 casos por 10.000 habitantes, observa-se uma redução de 12%. Entretanto, algumas regiões brasileiras ainda apresentam alta endemicidade, sendo necessária a

intensificação dos esforços para o controle e a eliminação da hanseníase nessas áreas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Entre os estados brasileiros, Mato Grosso, Tocantins e Maranhão são os que apresentam os maiores coeficientes de prevalência, sendo respectivamente de 7,69, de 5,54 e de 5,22 por 10.000 habitantes. Esses números indicam coeficientes de prevalência altos, definidos como aqueles entre cinco e 9,99 por 10.000 habitantes. Já os estados da Região Sul e Sudeste, com exceção do Espírito Santo, apresentavam coeficientes de prevalência baixos, ou seja, menos de um caso por 10.000 habitantes, tendo assim cumprido a meta estabelecida pela OMS. O estado do Rio Grande do Norte também apresentou menos de um caso por 10.000 habitantes, enquanto todos os demais apresentaram, em 2012, um coeficiente considerado médio, o qual se situa entre um e 4,99 casos por 10.000 habitantes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Em 2012, o número de casos novos de hanseníase no Brasil foi de 33.303. As taxas de casos novos são calculadas através do coeficiente anual de detecção por 100.000 habitantes, sendo o do Brasil, em 2012, de 17,2 casos por 100.000 habitantes, considerado alto (entre 10 e 19,99 por 100.000 habitantes). Ainda corroborando com o dado apresentado pela OMS de que o número de casos novos no mundo não apresentou uma redução tão significativa quanto a prevalência, os estados de Rondônia, Mato Grosso, Tocantins, Pará e Maranhão foram considerados hiperendêmicos, ou seja, com mais de 40 casos novos por 100.000 habitantes. Santa Catarina, Paraná, São

Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Rio Grande do Norte apresentaram endemicidade média, ou seja, entre dois e 9,99 casos por 100.000 habitantes. Já o Rio Grande do Sul apresentou baixa endemicidade (menos de dois casos novos por 100.000 habitantes), enquanto todos os outros estados apresentaram endemicidade alta ou muito alta. O Espírito Santo, com um coeficiente anual de detecção de 21,88 casos novos por 100.000 habitantes, apresentava, em 2012, endemicidade muito alta (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Um estudo epidemiológico realizado no Espírito Santo, com dados secundários obtidos a partir dos registros da Secretaria Estadual de Saúde, entre os anos de 2004 e 2009, avaliou a distribuição e comportamento da hanseníase nos 78 municípios do estado. Ao analisar os casos novos, através do coeficiente anual de detecção, 25 (32%) municípios foram classificados como hiperendêmicos, 21 (26,9%) apresentaram endemicidade muito alta e apenas dois foram considerados de baixa endemicidade. Na região metropolitana de Vitória, os municípios de Vitória, Vila Velha e Fundão foram considerados áreas de muito alta endemicidade, enquanto Serra, Cariacica, Viana e Guarapari ficaram entre os municípios hiperendêmicos (SAMPAIO e col., 2012).

Abordando os casos novos de hanseníase registrados no município de Vitória, entre 2003 e 2005, outro estudo procurou identificar as áreas de maior endemia. Dos 369 casos registrados no período, observou-se que, embora houvesse uma distribuição por todas as regiões do município, a área da Grande São Pedro

apresentou uma maior concentração de casos. Além disso, houve diferenças entre seus territórios, com maior concentração da doença nos territórios de São Pedro V, Resistência e Santo André, responsáveis por, respectivamente, 57, 22 e 29 casos, os quais, juntos, corresponderam a 32,5% (120 casos) de todos os casos de Vitória no período (MADEIRA, 2006).

No mesmo estudo, utilizando-se o coeficiente de detecção da hanseníase, verificou-se também que, dos 25 territórios de saúde de Vitória, nove foram classificados como hiperendêmicos de acordo com o Ministério da Saúde (MS), apresentando mais de 40 casos novos por 100.000 habitantes. Como, mesmo entre esses territórios, foi possível observar diferenças significativas, optou-se por dividi-los em dois grupos: hiperendêmico 1, aqueles com coeficiente de detecção maior que 100 casos novos por 100.000 habitantes, e hiperendêmico 2, aqueles que apresentaram coeficiente de detecção entre 40 e 100 casos novos por 100.000 habitantes. Utilizando-se esses dados, verificou-se que os territórios de maior risco para a transmissão da hanseníase, os hiperendêmicos 1, foram: São Pedro V, Resistência e Santo André, localizados na região de São Pedro, e Jabour, na região Continental, ao ser excluído o bairro Aeroporto, o qual não possui população residente. Já os territórios classificados como hiperendêmicos 2 foram: Maria Ortiz, Maruípe, Andorinhas, Consolação e Ilha das Caieiras (MADEIRA, 2006).

O município de Vitória possui diversas áreas com histórico de ocupação por invasões e os quatro territórios classificados como

hiperendêmicos 1 são justamente os de ocupação mais recente, levando à hipótese de que, com o fluxo migratório, pode ter havido importação de doentes e infectados de outras localidades para essas regiões. Esses dados, entretanto, devem ser avaliados em conjunto com as condições socioeconômicas dos territórios e, ao ser realizada a análise desses dados, verificou-se que quatro deles eram classificados, de acordo com o Índice de Carência Social (ICS), como apresentando condições precárias de vida, sendo estes: São Pedro V, Resistência, Fonte Grande e Consolação. Destes, os dois territórios classificados como hiperendêmicos 1 foram justamente áreas de ocupação recente. Já o território de Santo André, também classificado como hiperendêmico 1, apresentou um ICS médio, mas próximo ao limite do precário e, além disso, é contíguo aos territórios de São Pedro V e Resistência e teve sua ocupação de forma semelhante a estes. O quarto território a compor o grupo de maior endemicidade, Jabour, apresentou um ICS condizente com a existência de boas condições sociais, resultante dos investimentos em infraestrutura realizados no local. Entretanto, esta também é uma região que foi ocupada por invasões e a melhoria das condições de vida é recente, podendo não ter tido o impacto devido na saúde de seus habitantes, ainda mais no caso de uma doença com período de incubação longo, como a hanseníase (MADEIRA, 2006).

Um estudo realizado em São José do Rio Preto também analisou a distribuição geográfica dos 379 casos de hanseníase ocorridos na região urbana do município entre os anos de 1998 e 2007.

De forma análoga ao que foi demonstrado em Vitória, verificou-se uma distribuição irregular dos casos entre as diferentes regiões do município. Ao comparar esses dados com o perfil socioeconômico e a densidade demográfica das regiões, identificou-se que as áreas com maior concentração de casos de hanseníase correspondiam às regiões de nível socioeconômico mais baixo. Porém, não houve associação entre a incidência de hanseníase e a densidade demográfica das áreas analisadas (CURY e col., 2012).

A nova meta global, proposta pela OMS em 2010, é a redução, até o final de 2015, da taxa de casos novos com grau II de incapacidade para cada 100.000 habitantes em pelo menos 35%, quando comparada com a linha de base registrada no final de 2010. Desta forma, foca-se no diagnóstico precoce da hanseníase, fundamental para que os pacientes sejam tratados antes que venham a desenvolver incapacidades ou deficiências (OMS, 2010).

2.2 O MYCOBACTERIUM LEPRAE

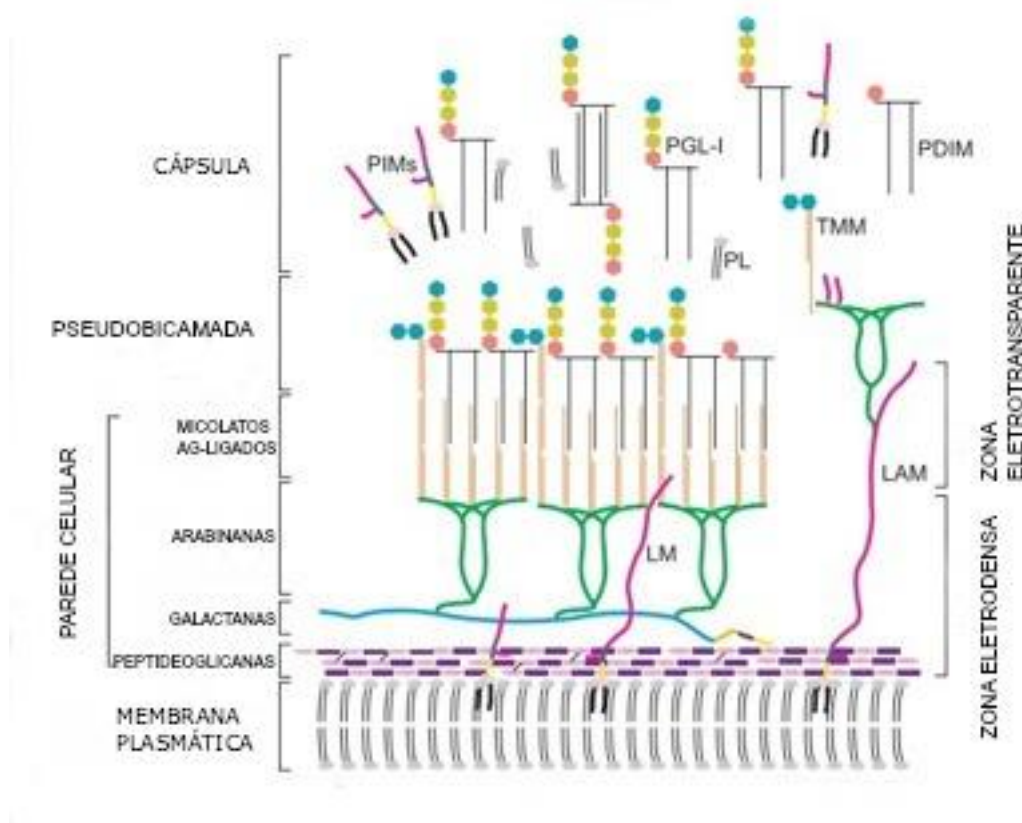
O *M. leprae* foi identificado como agente etiológico da hanseníase, então denominada lepra, em 1873, pelo médico norueguês Gerhard Henrick Armauer Hansen, tendo sido o primeiro agente bacteriano a ser identificado como causa de uma doença infecciosa no homem. É um bacilo reto ou levemente curvo, gram-positivo e álcool-ácido resistente, corando-se em vermelho pela fucsina e não se descorando após lavagem por álcool ácido (SCOLLARD e col., 2006). O bacilo tem entre um e oito micrômetros de comprimento

por 0,2 a 0,5 micrômetros de largura, sendo envolvido por uma parede celular contínua, composta por uma camada interna densa e uma camada externa elétron-transparente (BRENNAN, 1984).

Como demonstrado na Figura 1, adaptada de Vissa e Brennan (2011), o envoltório do *M. leprae* é constituído por três compartimentos principais: membrana plasmática, parede celular e cápsula. A parede celular é constituída por peptideoglicanos, arabinogalactanos e ácido micólico, formando um complexo, através de ligações covalentes, de composição similar ao encontrado em outras micobactérias (SCOLLARD e col., 2006). Três cadeias ramificadas de arabinana são ligadas à galactana, formando, junto com a camada de peptideoglicanos, a zona elétron densa ao redor do *M. leprae*. O folheto externo é composto por uma rica variedade de ácidos micólicos da trealose monomicolato (TMMs) e ácidos micocerosóicos de ftiocerol dimicocerosato (PDIMs) intercalados, bem como por glicolipídeos fenólicos (PGLs), formando a zona elétron-transparente (VISSA e BRENNAN, 2001; SCOLLARD e col., 2006). Essas mesmas moléculas, juntamente com fosfatidilinositol manosídeos (PIMs) e fosfolipídeos (PLs) são liberadas da parede celular após sua síntese, formando a cápsula que envolve o *M. leprae* (SCOLLARD e col., 2006).

Entre os PGLs presentes tanto no folheto externo, quanto na cápsula do *M. leprae*, encontra-se o PGL I. Este glicolipídeo, presente apenas no agente etiológico da hanseníase, foi identificado como seu principal componente antigênico (HUNTER e BRENNAN, 1981; PAYNE e col., 1982; SCOLLARD e col., 2006).

Figura 1 - Modelo esquemático do envoltório celular do *M. leprae*: A membrana plasmática é recoberta por uma parede celular composta por peptideoglicanos, associados covalentemente a galactanas através de uma unidade de ligação de arabinogalactana. Por sua vez, três cadeias ramificadas de arabinana são ligadas à galactana. A camada de peptideoglicana-arabinogalactana forma a zona elétron-densa. Ácidos micólicos estão ligados no final da cadeia de arabinana para formar o folheto interno da bicamada lipídica. O folheto externo é formado por TMMs, PDIMs e PGLs, conforme indicado no esquema. A bicamada forma a zona elétron-transparente. Uma cápsula composta basicamente de PGLs e outras moléculas como PDIMs, PIMs e PLs rodeiam a bactéria. Lipoglicanas como PIMs, LM (lipomanana) e LAM, conhecidos por se ancorarem à membrana plasmática, também são encontrados na cápsula (adaptado de Vissa e Brennan, 2001).



O *M. leprae* é microrganismo parasita intracelular obrigatório, que infecta preferencialmente macrófagos e possui afinidade pelas células de Schwann, no sistema nervoso periférico (RAMBUKKANA,

2001). O PGL I tem papel importante nesta afinidade pelas células nervosas periféricas, uma vez que um trissacarídeo presente em sua estrutura é responsável pela mediação entre o *M. leprae* e a célula de Schwann (NG e col., 2000).

2.3 VIAS DE TRANSMISSÃO DA HANSENÍASE

Como se acredita que a maioria das pessoas infectadas pelo *M. leprae* não desenvolva clinicamente a doença e como a micobactéria tem crescimento muito lento, com período de incubação de dois a 12 anos, determinar a fonte de infecção da hanseníase nem sempre é possível (RODRIGUES e LOOKWOOD, 2011).

Embora se aceite que a disseminação do *M. leprae* ocorra através de gotículas de secreção nasal, o seu modo de transmissão ainda não foi completamente esclarecido (RODRIGUES e LOOKWOOD, 2011). Outras vias de transmissão, como a mucosa oral e a pele, são sugeridas por alguns autores. Job e colaboradores (2008) pesquisaram, na Índia, a presença do *M. leprae* na pele e secreção nasal de pacientes com hanseníase virchowiana tratada e não tratada, além de seus contactantes domiciliares. Para tanto, realizou-se swab nasal e lavagem de áreas pré-determinadas de pele íntegra, com solução salina e gaze estéreis, de dez pacientes multibacilares sem tratamento e recém-diagnosticados, dez pacientes multibacilares tratados por um ano e 101 contatos domiciliares de 43 pacientes multibacilares não tratados. Identificou-se a presença de bacilos álcool-ácidos resistentes e PCR positivo para o DNA do *M. leprae* em 80%

dos lavados de pele e 60% das secreções nasais de pacientes multibacilares não tratados e em 17% dos lavados de pele e 4% das secreções nasais dos contatos, sugerindo-se, assim, que ambos os sítios são fontes potenciais de transmissão. Como controle para a possibilidade de PCR falso positivo, foi realizado swab nasal de 100 estudantes voluntários, provenientes de região não endêmica, nos Estados Unidos, tendo sido todos esses negativos (JOB e col., 2008).

Já Morgado de Abreu e colaboradores (2013) estudaram a presença do *M. leprae* na mucosa oral de 50 pacientes hansênicos, na cidade de São Paulo, sendo 29 (58%) multibacilares e 21 (42%) paucibacilares. Antes do início do tratamento desses pacientes, foram realizadas biópsias em áreas pré-estabelecidas da mucosa jugal, palato mole e língua, totalizando 150 peças histopatológicas, além de 13 biópsias adicionais de lesões mucosas suspeitas, encontradas durante o exame. A análise histopatológica não demonstrou comprometimento específico da mucosa oral, com exceção de duas peças histopatológicas provenientes de mucosa oral normal do mesmo paciente multibacilar, nas quais foram identificados granulomas e bacilos álcool-ácido resistentes. Dos pacientes analisados, 70% apresentaram imunoistoquímica positiva e 82,98% apresentaram PCR positivo em, pelo menos, uma peça histopatológica, sugerindo, assim, que a mucosa oral é importante fonte de *M. leprae* (MORGADO DE ABREU e col., 2013).

Em relação aos fatores que facilitam o contágio, é estabelecido que os contatos domiciliares de pacientes com hanseníase possuem

maior risco de adquirir a doença. Diversos estudos também apontam um maior risco entre os contatos domiciliares de pacientes multibacilares, quando comparados aos de pacientes paucibacilares. Entretanto, segundo a definição estabelecida pelo MS, os contatos correspondem apenas a pessoas que, durante os últimos cinco anos, residiram no mesmo domicílio de pacientes hansênicos (MS, 2001).

Apesar disso, diversos autores apontam a importância dos contatos extra domiciliares na disseminação do *M. leprae*. Visando melhor elucidação deste fato, Moura e colaboradores (2013) realizaram uma análise das duas regiões com maiores concentrações de hanseníase do município de Mossoró, Rio Grande do Norte, estado com coeficiente de prevalência baixo e endemidade média, entre janeiro e fevereiro de 2006. Para tanto, foram selecionados 82 pacientes com diagnóstico de hanseníase que residiam nestas localidades e examinou-se não apenas seus contatos domiciliares, mas também os moradores das duas casas adjacentes à residência de cada um destes pacientes. Caso não houvesse história de hanseníase na casa adjacente, seus moradores eram considerados contatos extradomiciliares e, se houvesse história de hanseníase, eram considerados contatos domiciliares e a próxima casa era convidada a participar do estudo. Desta forma, 258 residências foram visitadas, com 719 pessoas examinadas, sendo 82 casos conhecidos de hanseníase, 209 contatos domiciliares e 428 vizinhos, os quais foram considerados contatos extradomiciliares. Das 637 pessoas sem história de hanseníase, confirmou-se a doença, clínico e histopatologicamente, em

15 indivíduos, totalizando uma taxa de detecção de 2,4 casos por 100 examinados. Destes, seis eram contatos domiciliares e nove eram contatos extradomiciliares, não havendo, portanto, diferenças nas taxas de detecção entre os mesmos. Desta forma, ressalta-se a importância de expandir o conceito de contato para que se englobem os residentes em habitações vizinhas, principalmente em áreas hiperendêmicas com alta densidade populacional (MOURA e col., 2013).

Além disso, deve-se considerar também que os indivíduos, em sociedades industrializadas, passam grande parte de seus dias nos ambientes de trabalho. Seguindo essa premissa, Madeira (2006) investigou os locais de trabalho de 45 casos novos de hanseníase, residentes em Vitória, diagnosticados entre janeiro e junho de 2005. Destes, 22 eram trabalhadores e dez possuíam trabalhos nos quais os funcionários conviviam diariamente no mesmo ambiente. Realizou-se então, nos ambientes de trabalho de seis destes pacientes, divulgação dos sinais e sintomas da hanseníase, da existência de tratamento e cura e da importância do diagnóstico precoce, através de folhetos e cartazes, convidando os trabalhadores que apresentassem algum indício da doença a serem examinados. Em um desses locais de trabalho, no qual trabalhavam 190 funcionários, foram diagnosticados três casos de hanseníase, sendo um na forma tuberculóide e dois com formas virchowianas (MADEIRA, 2006).

Como, além de suas relações domiciliares e peri-domiciliares, médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem possuem contato prolongado não apenas com os demais profissionais de saúde, como

também com pacientes, muitos dos quais sabidamente portadores de hanseníase, o estudo sobre a exposição e infecção pelo *M. leprae* em serviços de saúde é relevante para lançar luz ao debate e analisar o real risco de aquisição da doença no ambiente dos serviços de saúde.

2.4 FORMAS CLÍNICAS DA HANSENÍASE

A infecção pelo *M. leprae* leva a inflamação granulomatosa crônica da pele e dos nervos periféricos. O tipo clínico de hanseníase que o paciente desenvolve é determinado pela sua resposta imune mediada por células, diante da infecção pelo bacilo. A forma inicial da hanseníase é denominada Hanseníase Indeterminada (HI), sendo instável e evoluindo, posteriormente, para uma das outras formas da doença (TALHARI e col., 2006; SAMPAIO & RIVITTI, 2008).

Pacientes com Hanseníase Tuberculóide (HT), forma paucibacilar da doença, possuem boa resposta imune celular, apresentando poucas lesões cutâneas (até cinco lesões) e não possuindo micobactérias detectáveis aos exames laboratoriais de rotina (baciloscopia de raspado intradérmico e histopatológico). Pacientes com Hanseníase Virchowiana (HV) ou lepromatosa, forma multibacilar da doença, são anérgicos ao *M. leprae*, apresentando várias lesões cutâneas (acima de cinco) e micobactérias viáveis, detectáveis à baciloscopia de raspado intradérmico e histopatológico (TALHARI e col., 2006; SAMPAIO & RIVITTI, 2008).

Entre esses dois polos existem formas intermediárias, nas quais os pacientes possuem algum grau de resposta imune celular,

conhecidas como formas borderlines ou dimorfas. As formas dimorfas são subdivididas em: Hanseníase Dimorfa-Tuberculóide (HDT), que se aproxima do polo tuberculóide em suas características clínicas, histológicas e baciloscópicas; Hanseníase Dimorfa-Dimorfa (HDD), forma instável com características tanto do polo virchowiano quanto do tubérculoide; e Hanseníase Dimorfa-Virchowiana, com características clínicas, histológicas e baciloscópicas mais próximas ao polo virchowiano (TALHARI e col., 2006; SAMPAIO & RIVITTI, 2008).

A OMS, por sua vez, introduziu uma classificação simplificada que usa o número de lesões cutâneas para dividir a doença em paucibacilar (até cinco lesões cutâneas) e multibacilar (mais de cinco lesões cutâneas). Entretanto, esta divisão leva a alguns erros, devendo ser utilizada unicamente para fins de tratamento e apenas quando não é possível a avaliação por profissional experiente (OMS, 2010; RODRIGUES e LOCKWOOD, 2011).

2.5 O GLICOLIPÍDEO FENÓLICO I

Em 1980, quando estudavam o soro de pacientes hansênicos, Brennan e Barrow identificaram que uma fração lipídica parcialmente purificada do *M. leprae* produzia linhas distintas de precipitação com o soro proveniente de dois pacientes hansênicos e de um tatu infectado. Verificaram, ainda, que a mesma fração lipídica não reagia com o soro de pacientes infectados por tuberculose ou *Mycobacterium avium* (*M. avium*), como também com o de tatus saudáveis. Adicionalmente, foi

identificado um componente glicolipídico principal nesta fração lipídica sorologicamente ativa (HUNTER e BRENNAN, 1981).

Um ano depois, Hunter e Brennan conseguiram isolar, a partir do fígado de tatus infectados, o glicolipídio principal da fração lipídica sorologicamente ativa identificada anteriormente, o qual foi posteriormente denominado PGL I. Para tanto, os tatus foram inoculados com 10^3 a 10^5 bacilos de *M. leprae* e, então, sacrificados em um prazo de um a três anos. O número de bacilos álcool-ácido resistentes por grama de tecido variou de 1×10^9 a 9×10^{10} . A partir destes bacilos, foi obtido um extrato lipídico que foi, então, purificado até que fosse isolado um PGL, semelhante, porém não idêntico ao micosídeo A, PGL identificado no *Mycobacterium kansasii* (*M. kansasii*). Contudo, não foi possível demonstrar de forma inequívoca que o PGL encontrado no *M. leprae*, de forma isolada, seria sorologicamente ativo (HUNTER e BRENNAN, 1981).

Em 1982, Payne e colaboradores conseguiram demonstrar que o PGL I mantinha-se sorologicamente ativo quando isolado, possuindo assim papel antigênico. Para tanto, incorporaram o PGL I purificado a lipossomas e demonstraram, em uma série de experimentos, que os lipossomas foram agregados e formaram precipitados em gel de agarose, quando reagiram com o soro de pacientes hansênicos. Lipossomas controle foram preparados da mesma forma, porém sem a presença do PGL I, e não reagiram com nenhum soro utilizado. Adicionalmente, foi verificado que a precipitação ocorreu quando o preparado de lipossomas contendo o PGL I reagiu com o soro não

diluído de três pacientes com hanseníase virchowiana ativa, com soro preparado a partir de vários pacientes virchowianos e com o soro de um tatu experimentalmente infectado. Enquanto isso, não houve formação de precipitado com o soro de dois pacientes do polo tuberculóide (um com HT e outro com HDT), com o soro de dois pacientes com tuberculose pulmonar ativa, nem com o soro de camundongos altamente infectados por *Mycobacterium lepraemurium* (*M. lepraemurium*) (PAYNE e col., 1982).

Desde que o PGL I foi isolado e caracterizado como antigênico, diversos estudos têm demonstrado que pacientes no polo virchowiano da hanseníase produzem grandes quantidades de imunoglobulinas do tipo IgM contra esse antígeno. Uma revisão sistemática, englobando 57 artigos sobre sorologia para o PGL I, encontrou 12 estudos de soropositividade em pacientes multibacilares e paucibacilares, utilizando-se diversas técnicas: ELISA, dipstick, *ML-Flow* e hemaglutinação passiva. A média de soropositividade encontrada nos estudos foi de 78% no grupo multibacilar e 23% no grupo paucibacilar, tendo variado de 51,2% a 97,4% no grupo multibacilar e 6,9% a 57,3% no grupo paucibacilar (MOURA e col., 2008).

Essa mesma revisão sistemática analisou 11 estudos sobre a soropositividade em contatos domiciliares de pacientes com hanseníase. Nestes, a soropositividade para o PGL I variou de 3,7 a 18,4%, sendo os valores mais elevados encontrados entre os contatos de pacientes multibacilares (MOURA e col., 2008)

Outras pesquisas, entretanto, encontraram taxas mais altas de positividade para o PGL I entre os contatos domiciliares de pacientes hansênicos, como Bühner-Sékula e colaboradores (2003), Andrade e colaboradores (2008) e Limeira e colaboradores (2013), que evidenciaram, respectivamente, 28,6%, 20,5% e 18,68% de soropositividade.

Brasil e colaboradores (2003), por sua vez, realizaram um estudo populacional prospectivo em um município de alta endemicidade do Estado de São Paulo, onde, em 1989, havia sido realizado um inquérito sorológico para hanseníase, através do teste ELISA anti-PGL I, entre a população urbana com idade igual ou superior a cinco anos. Para tanto, durante um período de quatro anos, compreendidos entre 1990 e 1993, os autores acompanharam os não doentes, ou seja, os que não haviam tido diagnóstico de hanseníase, entre os 6.520 indivíduos que haviam realizado o teste sorológico e os 896 demais habitantes da população urbana do município, os quais não foram submetidos ao ELISA anti-PGL I. O acompanhamento incluiu a convocação dos soropositivos para consulta médica anual, pesquisa nos arquivos do Centro de Vigilância Epidemiológica local e realização de atividades educativas, periodicamente, junto à sociedade. Ao analisarem os pacientes soropositivos, verificou-se que os mesmos apresentaram, durante o período, uma taxa de detecção de 440,7 casos novos de hanseníase por 10.000 habitantes, sendo esta taxa 5,4 vezes maior do que a encontrada entre os soronegativos, que foi de 80,9 casos novos por 10.000 habitantes (BRASIL e col., 2003).

Esse mesmo estudo também identificou que, entre os 679 indivíduos que apresentavam história de contato intra-domiciliar, definida como toda pessoa que residisse no mesmo domicílio de um doente de hanseníase no momento de seu diagnóstico, 22 foram diagnosticados com a doença durante este período, totalizando uma taxa de detecção de 342 casos novos por 10.000 contatos. Já no grupo de não contatos, identificou-se 60 casos, com taxa de detecção de 89,1 casos novos por 10.000. Desta forma, a condição de contato intra-domiciliar correspondeu a uma elevação do risco de hanseníase em 3,8 vezes, durante o período estudado. Mesmo havendo diferenças entre a detecção em contatos e não contatos, as taxas gerais de incidência da doença ainda são elevadas, provenientes de fontes de infecção indeterminadas. O foco intra-domiciliar parece ter, assim, uma grande importância na manutenção da doença em áreas de baixa endemicidade, enquanto que, em áreas de alta endemicidade, como a do presente estudo e a estudada por Brasil e colaboradores (2003), as fontes indeterminadas, provenientes de casos na população geral, são suficientes para manter os altos níveis de transmissão (BRASIL e col., 2003).

Também houve diferenças em relação à forma clínica do caso-índice, com taxas de detecção de 148,6 e 533,8 casos por 10.000 entre contatos de paucibacilares e multibacilares, respectivamente. Estes dados correspondem a um aumento do risco de adoecimento de 1,9 para contatos de paucibacilares e 5,7 para contatos de multibacilares. Os dados sobre soropositividade de contato intra-domiciliar também

foram comparados, verificando-se que a taxa de soropositividade para os contatos foi de 9,61% e, para os não contatos, de 7,65%. Identificou-se ainda que as menores taxas de detecção foram encontradas entre os não contatos soronegativos, sendo de 62,6 casos por 10.000 indivíduos, durante o período de seguimento. Já entre os contatos soropositivos, a taxa de detecção foi de 1.704,3 casos por 10.000 indivíduos, sendo a maior entre os grupos e 27 vezes maior do que no grupo de não contatos soronegativos. Entre esses extremos, os não contatos soropositivos apresentaram taxa de detecção de 273,8 casos por 10.000 indivíduos e os contatos soronegativos de 197,7 casos por 10.000, valores sem diferenças significativas entre si. Ao individualizar o risco de hanseníase em função da soropositividade, entre contatos e não contatos, verificou-se, portanto, que a condição isolada de soropositividade para o anti-PGL I estava associada a um risco 8,6 vezes maior entre os contatos intra-domiciliares e 4,4 vezes maior entre os não contatos. Desta forma, a soropositividade para o PGL I representou condição associada a maiores riscos de adoecimento, sendo este fato particularmente evidente entre os contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase (BRASIL e col., 2003).

2.6 O ML-FLOW

Desde a caracterização do PGL I como antígeno específico do *M. leprae*, diversos ensaios sorológicos foram desenvolvidos para a detecção de anticorpos anti-PGL I das classes IgM, IgG e IgA,

utilizando-se tanto o PGL I nativo quanto seus derivados semissintéticos, os quais podem ser conjugados tanto à albumina do soro bovino (BSA), quanto à albumina do soro humano (BÜHRER-SÉKULA, 2008).

Pela possibilidade de produção em grandes quantidades e maior facilidade em sua aplicação, os testes sorológicos com derivados semissintéticos do PGL I ganharam espaço e tornaram viáveis a realização de grandes estudos epidemiológicos. As técnicas sorológicas utilizadas incluem ELISA, Teste de Hemaglutinação Passiva (PHA), Teste de Aglutinação com Partícula de Gelatina (MLPA), dipstick e o *ML-Flow* (BÜHRER-SÉKULA, 2008). No presente estudo, utilizamos o *ML-Flow*, um teste imunocromatográfico que utiliza antígeno semissintético e ligado à albumina do soro bovino (BSA) para detectar o anticorpo anti-PGL I do tipo IgM.

Apesar do ELISA ser um método bem estabelecido e tido, muitas vezes, como padrão ouro, o *ML-Flow* apresenta vantagens, principalmente por sua aplicação rápida e fácil, apresentando resultados em até dez minutos. Para investigar o seu desempenho, Bühner-Sékula e colaboradores (2003) aplicaram o *ML-Flow* em 561 amostras de soro, coletadas em três áreas de alta endemicidade, no Brasil, Indonésia e Filipinas, e em 20 amostras de áreas de baixa endemicidade, em Gana. Os soros foram obtidos de 114 pacientes multibacilares recém-diagnosticados, 85 pacientes paucibacilares recém diagnosticados, 42 contatos intradomiciliares de pacientes com hanseníase, 106 pacientes com outras doenças cutâneas e 234

indivíduos saudáveis. Foram também testadas 99 amostras de soro de indivíduos de áreas sem presença de hanseníase, na Holanda, além de 59 amostras provenientes de pacientes, na Holanda, com outras doenças (tuberculose, HIV, hepatite A, hepatite B, sífilis, malária, toxoplasmose, doenças autoimunes e pacientes com fator reumatóide positivo). Estas amostras foram testadas tanto com o *ML-Flow* quanto com o ELISA, utilizando o derivado semissintético do PGL I. Das 739 amostras testadas, resultados concordantes foram obtidos em 673, estabelecendo uma concordância de 91% ($\kappa = 0,77$; IC 95% 0,70 a 0,84), o que indica boa correlação entre os testes. O *ML-Flow* foi positivo em 97,4% dos paciente multibacilares, 40% dos paucibacilares, 28,6% dos contatos intra-domiciliares e 9,8% dos controles. A sensibilidade do *ML-Flow* para classificar corretamente os pacientes multibacilares foi de 97,4% e a especificidade, baseada nos resultados obtidos com o grupo controle, foi de 90,2% ou, caso indivíduos de áreas não endêmicas fossem excluídos, de 86,2%. Na análise do soro de pacientes com outras doenças cutâneas, não houve nenhuma doença associada com maiores índices de soropositividade (BÜHRER-SÉKULA e col., 2003).

Lobato e colaboradores (2011), em um estudo realizado em Uberlândia, Minas Gerais, compararam os resultados de três testes sorológicos para o PGL I: ELISA utilizando a forma nativa do PGL I, ELISA utilizando o antígeno semissintético do PGL I e o *ML-Flow*. Para tanto, foram analisados os soros de 154 pacientes com hanseníase recém-diagnosticados, sendo 44 paucibacilares e 110 multibacilares,

de 191 contatos intradomiciliares, definidos como aqueles que residiam ou haviam residido com o paciente nos últimos cinco anos, além de 52 controles saudáveis, sem história de contato com pacientes hansênicos. A detecção de anticorpos do tipo IgM contra o PGL I, no soro de pacientes com hanseníase, foi de 68,83% no ELISA com PGL I nativo, 63,64% no ELISA com PGL I semissintético e 60,65% no *ML-Flow*. Analisando-se apenas os 44 pacientes paucibacilares, evidenciou-se que a soropositividade foi de 33,73% com o ELISA PGL I nativo e 31,82% com o ELISA PGL I semissintético, enquanto que nenhum destes pacientes apresentaram detecção do anticorpo com o *ML-Flow*. Já entre os 110 pacientes multibacilares, a soropositividade foi de 86,36% com o ELISA com PGL I nativo, 76,36% com o ELISA com PGL I semissintético e de 90% com o *ML-Flow*. Separando-se os doentes de acordo com a classificação de Ridley e Jopling, a soropositividade apresentou um incremento gradual de acordo com a forma da doença, na direção do polo virchowiano, nos três testes analisados. A concordância entre os três testes foi calculada, utilizando-se o coeficiente de Kappa, e foi demonstrado que entre os testes ELISA PGL I nativo e *ML-Flow*, a concordância foi substancial ($\text{kappa} = 0.75$; $P < 0,0001$), entre o ELISA PGL I nativo e o ELISA PGL I semissintético a concordância foi de moderada a significativa ($\text{kappa} = 0.48$; $P < 0,001$), assim como entre o ELISA PGL I semissintético e o *ML-Flow*, com $\text{Kappa} = 0.56$ e $p < 0,001$ (LOBATO e col., 2011).

O mesmo estudo identificou que os contatos intra-domiciliares eram compostos em 26% de contatos de pacientes paucibacilares e

74% de contatos de pacientes multibacilares. Não houve diferenças na soropositividade entre os contatos de paucibacilares e multibacilares e o padrão de soropositividade entre os testes seguiu o identificado entre os pacientes, ou seja, 25% de soropositividade com o ELISA PGL I nativo, 17% com o ELISA PGL I semissintético e 10% com o *ML-Flow*. Esses valores são muito próximos, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre os testes (LOBATO e col., 2011).

Corroborando com esses dados, uma revisão sistemática que incluiu 26 artigos, identificou que não houve diferenças significativas entre os resultados apresentados por métodos ELISA e os métodos rápidos de detecção de anticorpos, segundo avaliação realizada por Moura e colaboradores em 2008.

2.7 A ALBUMINA DO SORO BOVINO

A presença de anticorpos humanos reativos a proteínas de origem animal é, com frequência, apontada como causa de interferência em testes imunológicos (KRICKA, 1999). Dessa forma, e uma vez que anticorpos anti-BSA são comuns na população, a presença do BSA nos testes *ML-Flow* utilizados no presente estudo deve ser levada em consideração.

Rothberg e colaboradores (1964) estudaram o soro de 900 crianças e adultos, identificando a presença do anticorpo anti-BSA em 75% das crianças, 25% dos adultos jovens (entre 16 e 40 anos de idade) e 8% dos indivíduos acima de 40 anos e, concluindo, assim, que

além de ser comumente encontrado na população, a presença do anticorpo anti-BSA é mais frequente entre os mais jovens.

Mogues e colaboradores (2005) também identificaram anticorpos anti-BSA circulantes em 55% dos 60 doadores de sangue saudáveis, corroborando com a teoria de que estes são comuns na população.

Discute-se se a presença de anticorpos anti-BSA circulantes seria decorrente da imunidade inata do indivíduo, ou se necessitaria de exposição ao antígeno, através do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC). Entretanto, a segunda hipótese parece mais provável, uma vez que o BSA é um antígeno comumente encontrado na dieta humana (SJÖWALL e col., 2011).

Diversos autores também relacionaram a presença do anti-BSA a determinadas doenças com substrato imunológico. Pérez-Maceda e colaboradores (1991), por exemplo, identificaram que anticorpos no soro de alguns pacientes com artrite reumatoide (AR) eram capazes de reconhecer a albumina bovina presente no leite. Sjöwall e colaboradores (2011), no entanto, ao estudarem 189 pacientes com AR e 186 doadores de sangue saudáveis, identificaram que os anticorpos anti-BSA eram comuns, mas igualmente presentes entre os os grupos: 50% dos pacientes com AR e 62% dos controles saudáveis apresentavam anticorpos anti-BSA circulantes, não havendo significância estatística na diferença apresentada entre os grupos. As concentrações de anticorpos anti-BSA também não apresentaram relação significativa com a atividade da doença, outros aspectos

sorológicos ou progressão da doença nos três anos de acompanhamento.

Outras doenças, como diabetes mellitus insulino-depentende (DMID), lúpus eritematoso sistêmico (LES), doenças inflamatórias intestinais (DII) e doença celíaca também foram correlacionadas com níveis elevados de anticorpos anti-BSA ciruculantes (LERNER e col., 1989; PARDINI e col., 1996; RODRIGUEZ-JUAN e col., 2003; SU e col., 2008).

Assim, uma vez que a presença de anticorpos anti-BSA poderia estar correlacionada tanto com as referidas doenças, como com uma ingestão aumentada de leite, derivados e carne bovina – fontes importantes de exposição ao BSA - tais variáveis foram avaliadas no presente estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Conhecer a soropositividade para o PGL I entre os profissionais de saúde (médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem) que trabalham no HUCAM, hospital universitário de nível terciário, localizado no município de Vitória, Espírito Santo, Brasil, independente de terem ou não trabalhado em serviços de hanseníase.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estabelecer, para os profissionais de saúde estudados, relações entre a soropositividade para o PGL I e os seguintes fatores: sexo, profissão, local de trabalho, tempo de atuação profissional, trabalho com pacientes hansênicos, existência de contato domiciliar com hanseníase, comorbidades relacionadas ao *ML-Flow* falso positivo e consumo de carne bovina, leite e derivados.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Estudo transversal, descritivo, observacional e homodêmico, utilizando amostra de profissionais de saúde do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes, situado em Vitória - Espírito Santo, Brasil, durante o período de 01 de maio de 2012 a 31 de julho de 2013.

O estudo integra um projeto multicêntrico, que envolve cinco outras instituições – Universidade Federal de Goiás (UFG), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e Universidade do Estado do Amazonas (UEA) – e tem por objetivo ampliar o conhecimento na área, identificando os padrões de soropositividade para o PGL I entre profissionais de saúde de municípios com diferentes endemicidades para a hanseníase.

Os componentes do estudo eram: médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem que trabalhavam no HUCAM durante o período do estudo, tendo a seleção dos participantes sido realizada em duas fases.

Na primeira fase do estudo, foram incluídos 100 profissionais de saúde, buscando-se manter número equivalente de participantes entre as diferentes categorias profissionais. Para tanto, procedeu-se à visita dos diferentes setores do HUCAM, convidando os funcionários a participarem da pesquisa. Após serem prestados os devidos esclarecimentos, os profissionais que concordassem em participar

assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A), tinham os dados devidamente preenchidos em um questionário próprio (APÊNDICE B) e procedia-se a coleta da amostra de sangue.

Na segunda fase do estudo, para ser mantido maior controle dos dados coletados, foi solicitada ao departamento pessoal do HUCAM, mediante autorização da direção do hospital, uma listagem de todos os funcionários médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem. Estipulou-se uma amostra de 200 participantes para esta fase e, através de programa Epi-Info, foram sorteados randomicamente 240 participantes entre os 591 funcionários listados, prevendo uma taxa de até 20% de não aceitação na participação da pesquisa, entre os funcionários sorteados. Nesta fase, não houve separação inicial de acordo com a categoria profissional dos participantes.

O HUCAM é um hospital terciário e o único hospital escola da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), contando com 287 leitos e realizando mais de 200.000 consultas ambulatoriais por ano. Além de atendimento em diversas especialidades, dispõe de um serviço de urgência e emergência, unidade de terapia intensiva e serviços de auxílio diagnóstico. Seus funcionários, assim, atuam em diferentes áreas da assistência à saúde.

4.2 CRITÉRIO DE INCLUSÃO

Na primeira fase do estudo foi adotado o seguinte critério de inclusão: médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem que aceitassem participar do estudo ao serem convidados durante visita

dos pesquisadores ao local de trabalho em que estivessem lotados. Nessa etapa, procurou-se respeitar a iniciativa dos funcionários em participar da pesquisa.

Já o critério de inclusão do estudo para sua segunda fase compreendeu médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem listados como funcionários do HUCAM e sorteados, randomicamente, através do programa Epi-Info.

4.3 COLETA DA AMOSTRA DE SANGUE

A coleta do sangue a ser analisado foi realizada após punctura na polpa digital do quarto dedo da mão esquerda (ou direita, caso o examinado fosse canhoto), precedida de desinfecção local com compressa de álcool a 70%. Com lanceta apropriada, foi realizada, de acordo com as orientações detalhadas no Protocolo para Coleta de Sangue (APÊNDICE C), a punctura com perfuração e coletados: (1) 5 µl (microlitros) de sangue com um tubo capilar, tocando o sangue com o tubo – amostra utilizada para o *ML-Flow* e (2) aproximadamente 30 µl (micro litros) de sangue a serem depositados nos três círculos do cartão de papel de filtro Whatman no. 3 – amostra utilizada para o ELISA.

Cabe ressaltar que, para cumprimentos dos prazos estabelecidos no presente estudo, não foi possível aguardar os resultados do teste ELISA para as amostras de sangue coletadas. A análise dos resultados obtidos através do ELISA, bem como sua comparação com os resultados aqui expostos, serão realizados em

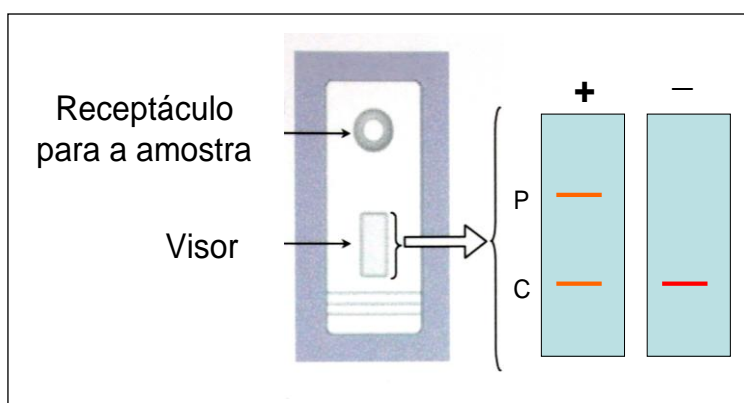
uma etapa posterior. Por esse motivo, não detalharemos os aspectos unicamente relacionados ao ELISA.

4.4 ML-FLOW

Para a identificação dos anticorpos anti-PGL I, foi realizado o teste sorológico *ML-Flow* com sangue total, utilizando materiais produzidos pelo laboratório de imunologia da UFG.

Na realização deste teste, emprega-se um cartucho plástico retangular, achatado, com cerca de oito e meio centímetros de comprimento, dois centímetros de largura e meio centímetro de espessura. Em uma das extremidades do cartucho está localizado um receptáculo redondo, onde o sangue do paciente é colocado, e, em seu centro, encontra-se uma abertura chamada de zona de teste e identificada com as letras T (teste) e C (controle), conforme demonstrado na Figura 2.

Figura 2 - Modelo esquemático do cartucho para realização do teste *ML-Flow*.



Durante a realização do teste, o cartucho era removido de seu invólucro protetor e posicionado horizontalmente sobre uma bancada, com o receptáculo redondo para a amostra e o visor quadrado voltados para cima. Em seguida, era depositado os 5 µl de sangue, coletados do profissional de saúde participante, no receptáculo redondo, acrescentando-se, posteriormente, 130 µl de fluido reagente no mesmo receptáculo. Após cinco minutos, era realizada a leitura do resultado, sendo o mesmo devidamente registrado.

Para o teste ser considerado válido, é necessário que a faixa de controle core. Caso isto não ocorra, o teste é considerado como não reagente e invalidado. A pigmentação da faixa teste revela a presença de anticorpos IgM específicos para o *M. leprae*. De acordo com a intensidade da pigmentação na linha de teste, se quantifica a positividade em 1+, 2+, 3+ e 4+.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e analisados através do programa de estatística *SPSS Statistics 17.0*, determinando-se as suas frequências e as respectivas porcentagens.

Foi realizado o teste qui-quadrado de Pearson e tomou-se como base o nível de significância de $p \leq 0,05$. Também foram obtidas as *odds ratios* com seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

4.6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, sob o número 239/11, sendo aprovado em Reunião Extra Ordinária realizada em 26 de outubro de 2011 (ANEXO A).

O estudo não trouxe prejuízos aos sujeitos envolvidos. Os participantes tiveram assegurado seu anonimato, de acordo com o prescrito na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, que contém diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Todos os aspectos éticos e legais referentes às fases do projeto foram respeitados, de acordo com a referida resolução. Além disso, o procedimento de coleta de sangue não representou dano a nenhum dos participantes envolvidos.

5 RESULTADOS

O presente estudo foi conduzido em duas etapas, com critérios de inclusão diferentes. Na primeira etapa, foram incluídos os profissionais de saúde que aceitaram participar do estudo ao serem convidados pelos pesquisadores, durante visita destes aos diferentes setores do HUCAM. Na segunda etapa, foram incluídos os profissionais de saúde sorteados randomicamente, a partir da listagem de funcionários do HUCAM.

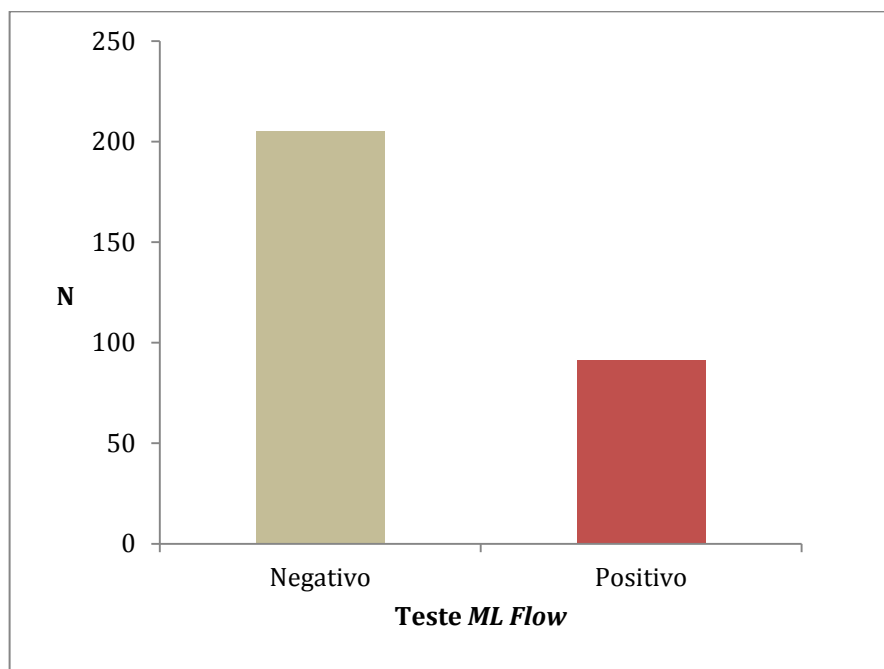
Uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos nas duas etapas ($p=0,110$), os pesquisadores optaram por analisar os dados conjuntamente.

Dos 300 testes sorológicos realizados em profissionais de saúde do HUCAM, durante o período de 01 de maio de 2012 a 31 de julho de 2013, um total de 296 (98,7%) foram considerados válidos, tendo os demais quatro cartuchos não apresentado pigmentação da faixa controle. Desses 296 testes válidos, verificou-se que 91 (30,7%) apresentaram resultados positivos no teste *ML-Flow* para detecção do PGL I, conforme Tabela 1 e Figura 3.

Tabela 1 - Resultado do teste *ML-Flow* entre os profissionais de saúde atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes (Vitória – Espírito Santo).

Teste <i>ML-Flow</i>	N	%
Negativo	205	69,3
Positivo	91	30,7
Total	296	100,0

Figura 3 - Resultado do teste *ML-Flow* entre os profissionais de saúde atendidos no Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (Vitória – Espírito Santo).

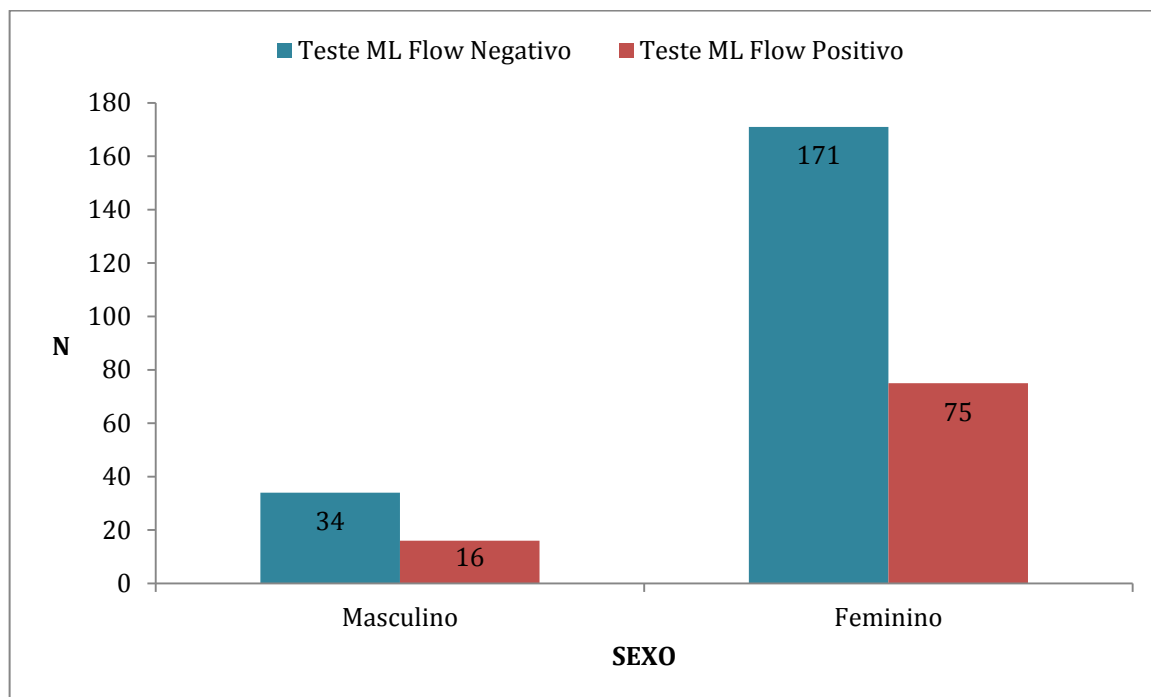


Dos 296 trabalhadores de saúde com testes válidos, 246 (83%) eram mulheres e 50 (17%) homens, conforme Tabela 2 e Figura 4. Como também demonstrado na tabela e na figura, entre os 91 resultados positivos encontrados no estudo, 16 (18%) referiam-se a profissionais masculinos, enquanto 75 (82%) eram de mulheres, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p=0,833$).

Tabela 2 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao sexo e ao resultado do teste *ML-Flow*.

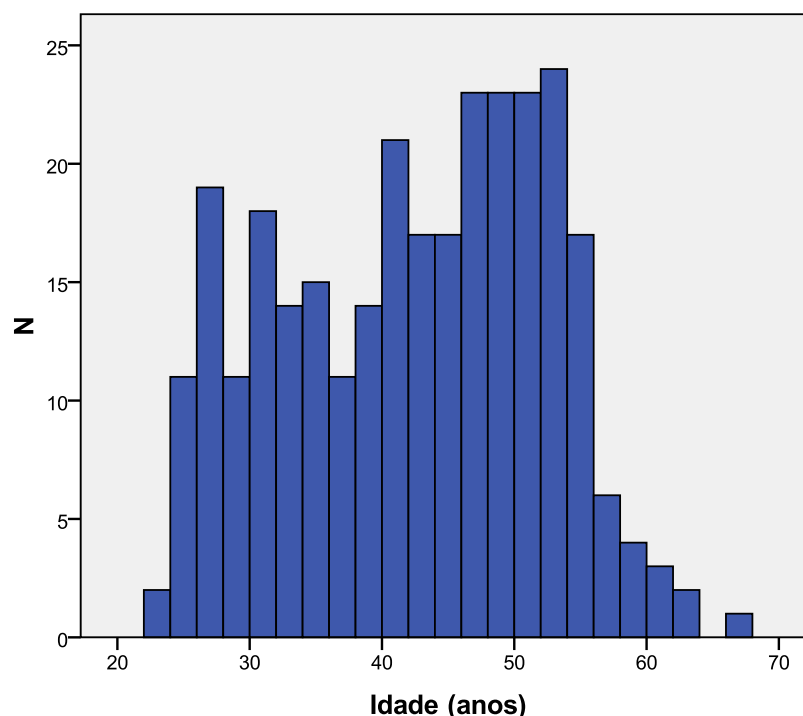
Variável	Categoria	Teste <i>ML-Flow</i>							
		Total		Negativo		Positivo		p-valor	
		N	%	N	%	N	%		
Sexo	Masculino	50	17%	34	17%	16	18%	0,833	
	Feminino	246	83%	171	83%	75	82%		

Figura 4 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao sexo e ao resultado do teste *ML-Flow*.



A idade dos profissionais de saúde do estudo variou de 23 anos a 66 anos, com desvio padrão de nove anos e oito meses, sendo a média de 41 anos e nove meses e a mediana de 42 anos, como representado no histograma da Figura 5.

Figura 5 - Histograma da idade dos 296 profissionais de saúde trabalhadores do Hospital Universitário Cassiano Antonio Moraes (Vitória – Espírito Santo).

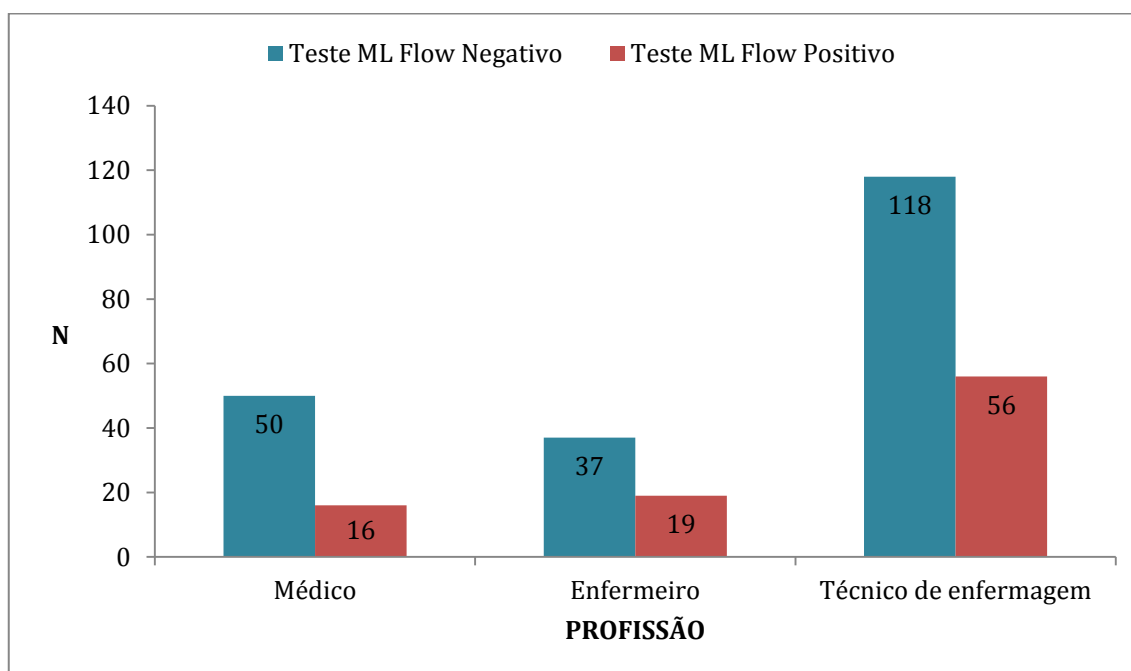


Em relação à profissão, 174 (59%) profissionais de saúde eram auxiliares de enfermagem, 66 (22%) profissionais eram médicos e 56 (19%) enfermeiros, como pode ser observado na Tabela 3. Verifica-se também, na Tabela 3 e na Figura 6, que entre os 91 profissionais que apresentaram resultados positivos para o teste *ML-Flow*, 16 (18%) eram médicos, 19 (21%) enfermeiros e 56 (62%) auxiliares de enfermagem, sem diferença estatística ($p=0,418$). Analisando-se os médicos separadamente, a positividade para o *ML-Flow* foi de 24%, enquanto tanto os enfermeiros quanto os auxiliares de enfermagem apresentaram *ML-Flow* positivo em 32% dos casos.

Tabela 3 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação à profissão e ao resultado do teste *ML-Flow*.

Profissão	Teste ML-Flow						p-valor
	Total		Negativo		Positivo		
	N	%	N	%	N	%	
Medico	66	22%	50	24%	16	18%	0,418
Enfermeiro	56	19%	37	18%	19	21%	
Auxiliar de Enfermagem	174	59%	118	58%	56	62%	

Figura 6 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação à profissão e ao resultado do teste *ML-Flow*.



Quanto aos locais de trabalho, 16 (5%) profissionais de saúde trabalhavam em ambulatórios de hanseníase, 113 (38%) em ambulatórios gerais, 251 (85%) na enfermaria e 70 (24%) no serviço de emergência, conforme demonstrado pela Tabela 4. Verifica-se, portanto, que a maioria dos profissionais estudados atuavam em mais de um setor de atendimento à saúde.

Tabela 4 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação aos locais de trabalho e ao resultado do teste *ML-Flow*.

Locais de trabalho	Categoria	Teste ML-Flow						p-valor
		Total		Negativo		Positivo		
		N	%	N	%	N	%	
Ambulatório hanseníase	Sim	16	5%	12	6%	4	4%	0,609
	Não	280	95%	193	94%	87	96%	
Ambulatório geral	Sim	113	38%	80	39%	33	36%	0,652
	Não	183	62%	125	61%	58	64%	
Enfermaria	Sim	251	85%	175	85%	76	84%	0,683
	Não	45	15%	30	15%	15	16%	
Emergência	Sim	70	24%	49	24%	21	23%	0,877
	Não	226	76%	156	76%	70	77%	

Em relação ao tempo de trabalho no setor de saúde, 86 (29%) profissionais tinham até dez anos de atuação, enquanto 210 (71%) atuavam há mais de dez anos. Não houve significância estatística ($p=0,690$) ao comparar o tempo de atuação com os resultados do *ML-Flow*.

Especificamente em relação à hanseníase, 63 (21%) profissionais trabalhavam ou haviam exercido, em algum momento de sua atuação profissional, atividades em serviços de hanseníase, enquanto 233 (79%) negaram haver trabalhado nesses locais. Estes dados não determinaram diferença estatística ($p=0,264$), quando comparados ao resultados dos testes *ML-Flow*.

Já o contato com familiares hansenianos entre os profissionais de saúde analisados foi estatisticamente significativa ($p=0,001$), sendo que dos 296 profissionais estudados, 21 tiveram algum parente com

hanseníase e destes, 14 eram positivos para o teste *ML-Flow*. A chance do teste *ML-Flow* ser positivo nos profissionais que tinham algum contato familiar com hanseníase foi de 5,143 (IC 95% 2,000-13,228) vezes maior que a dos profissionais sem história de contato familiar com hanseníase.

A Tabela 5 mostra as variáveis: tempo de atuação nas profissões de saúde, presença de trabalho exercido no setor de hanseníase e contato dos profissionais estudados com familiares hansenícos.

Tabela 5 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação ao tempo de atuação na profissão de saúde, ao trabalho com hanseníase e contato familiar com a hanseníase.

Variável	Categoria	Total		Negativo		Positivo		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Tempo de atuação	Ate 10 anos	86	29%	61	30%	25	27%	0,690
	>10 anos	210	71%	144	70%	66	73%	
Trabalhou com hanseníase	Sim	63	21%	40	20%	23	25%	0,264
	Nao	233	79%	165	80%	68	75%	
Contato Familiar com hanseníase	Sim	21	7%	7	3%	14	15%	0,001
	Nao	275	93%	198	97%	77	85%	

A Tabela 6 apresenta os resultados dos testes *ML Flow* em relação os possíveis fatores de confusão para a soropositividade nos profissionais de saúde, demonstrando ausência de associação estatística entre a positividade ao teste *ML Flow* e as comorbidades relacionadas ($p=0,179$), o consumo de carne bovina ($p=0,390$), e o consumo de leite e derivados ($p=0,992$).

Tabela 6 - Distribuição dos profissionais de saúde em relação a presença ou ausência de comorbidades, consumo de carne bovina, leite e derivados.

Variável	Categoria	Total		Negativo		Positivo		p-valor
		N	%	N	%	N	%	
Comorbidades	Nenhuma	206	70%	136	66%	70	77%	0,179
	Relacionadas com <i>ML Flow</i> falso positivo*	23	8%	17	8%	6	7%	
	Outras Comorbidades	67	23%	52	25%	15	16%	
Carne bovina	Não Come	5	2%	4	2%	1	1%	0,390
	Semanal	264	89%	185	90%	79	87%	
	Mensal	18	6%	12	6%	6	7%	
	Raramente	9	3%	4	2%	5	5%	
Leite e derivados	Não Come	6	2%	4	2%	2	2%	0,992
	Semanal	272	92%	188	92%	84	92%	
	Mensal	11	4%	8	4%	3	3%	
	Raramente	7	2%	5	2%	2	2%	

* Comorbidades relacionadas com *ML Flow* falso positivo: AR, DMID, LES, DII e doença celíaca

6 DISCUSSÃO

A determinação dos índices de positividade do anticorpo anti-PGL I entre os profissionais de saúde do HUCAM, realizada pela primeira vez no presente estudo, foi relevante, pois forneceu um panorama do contato com o *M. leprae* entre os profissionais médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem de um hospital escola terciário, localizado em um município de endemicidade muito alta (20,1 casos novos por 100.000 habitantes em 2012).

Cabe ressaltar que, além do município de Vitória, onde se localiza o HUCAM, ser considerado de endemicidade muito alta, quatro municípios integrantes de sua região metropolitana (Serra, Cariacica, Viana e Guarapari) são hiperendêmicos, conforme demonstrado por Sampaio e colaboradores (2012). Dessa forma, há que se considerar não apenas o fato do HUCAM atender à população proveniente desses municípios hiperendêmicos, como também que muitos dos profissionais estudados residem nesses locais.

Além disso, por prestarem atendimento em diversos tipos de Unidades de Saúde, tanto em Vitória quanto nos demais municípios de sua região metropolitana, esses profissionais de saúde entram em contato com pacientes hansênicos, muitas vezes sem tomarem o devido conhecimento de tal fato. Seja pelo desconhecimento do diagnóstico por parte dos pacientes, ou mesmo pelo próprio estigma social causado pela doença, é provável que, com frequência, os profissionais de saúde não tomem conhecimento de que estão diante

de um paciente hansênico, principalmente em serviços de urgência e emergência, onde a alta rotatividade dificulta uma análise mais pormenorizada.

Os dados da pesquisa foram obtidos através de questionários aplicados aos profissionais participantes, bem como do teste sorológico *ML-Flow* com sangue total, realizado em amostras de sangue coletadas pelos próprios pesquisadores. A leitura de cada teste foi realizada, individualmente, por dois pesquisadores, sendo seus resultados, posteriormente, comparados. Houve concordância entre os pesquisadores para todos os resultados obtidos, o que possibilitou a padronização e confiabilidade dos dados.

O estudo demonstrou que 30,7% dos profissionais de saúde analisados no HUCAM foram positivos para o teste *ML-Flow*. Ainda são escassas publicações sobre o tema, havendo grande disparidade entre os resultados apresentados. Calado e colaboradores (2013), encontraram positividade para o PGL I, através do teste *ML-Flow*, em 10,8% dos profissionais de saúde estudados na cidade do Rio de Janeiro (RJ), 16,0% dos profissionais de saúde estudados na cidade de Dourados (MS) e 21,8% dos profissionais de saúde estudados na cidade de Cruz Alta (RS). Pacheco e colaboradores (2013), por sua vez, encontraram 9,3% de positividade entre profissionais de saúde estudados no município de Manaus, também utilizando o teste *ML-Flow*.

A cidade de Cruz Alta (RS), local onde foi encontrado o maior índice de positividade entre os demais estudos citados acima,

apresenta baixa endemicidade para a hanseníase, enquanto os municípios do Rio de Janeiro e Dourados são considerados áreas de alta endemicidade, assim como Manaus, onde foi encontrado o índice mais baixo de positividade para o *ML-Flow*. Nota-se, portanto, que nesses estudos, a positividade não apresentou correlação positiva com a endemicidade da localização.

O presente estudo, realizado em local de endemicidade muito alta para hanseníase e, portanto, com probabilidade maior de exposição de sua população ao *M. leprae* do que a encontrada nas cidades de Manaus, Rio de Janeiro, Dourados e Cruz Alta, apresentou índice de positividade para o *ML-Flow* mais alto do que o encontrado nas demais cidades estudadas.

O resultado do presente estudo é comparável ao encontrado por Bühner-Sékula e colaboradores (2003) em estudo que identificou positividade de 28,6% para o PGL I, entre contatos domiciliares de pacientes hansênicos. A positividade encontrada entre esses contatos domiciliares, no entanto, também é bastante variável, com valores que variaram entre 3,7 e 20,5% em diversos estudos analisados (CALADO e col., 2005; ANDRADE e col., 2008; MOURA e col., 2008; LIMEIRA e col., 2013).

Embora a positividade para o PGL I entre controles saudáveis situe-se, em diversos estudos, entre 0,7 e 10% (BÜHRER-SÉKULA e col., 2003; MOURA e col. 2008), Van Beers e colaboradores (1999) identificaram positividade de 26 a 28%, sendo comparáveis ao presente estudo, entre crianças em idade escolar que habitavam três

distritos na Indonésia, sendo um deste hiperendêmico e os demais com endemicidade muito alta. O mesmo estudo identificou positividade de 7,5% em dois distritos com baixa endemicidade para hanseníase, também localizados na Indonésia.

O predomínio de mulheres (83%) entre os profissionais estudados pode ser explicado pelo maior número de indivíduos do sexo feminino no universo estudado (profissionais de saúde do HUCAM), sendo que dos 591 médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem listados como funcionários pelo departamento pessoal do HUCAM, 159 (26,9%) eram homens e 432 (73,1%) eram mulheres. O predomínio do sexo feminino também reflete a realidade atual do mercado brasileiro, em que 73,8% dos cargos nos serviços de saúde são ocupados por mulheres (IBGE, 2013).

Os dados encontrados na literatura são conflitantes, mostrando ora maior positividade entre indivíduos do sexo feminino (CHANTEAU e col., 1993; VAN BEERS e col., 1994; FINE e col., 1998; SCHURING e col., 2006), ora maior positividade entre indivíduos do sexo masculino (ANDRADE e col., 2008; PACHECO e col., 2013) e ora sem diferença entre os sexos (BAGSHAWE e col., 1990; SINHA e col., 2004; CALADO e col., 2005), como aqui demonstrado.

A idade dos profissionais de saúde estudados corresponde à faixa etária economicamente ativa da população, com 71% destes apresentando mais de 10 anos de atuação no setor. Não houve diferença entre os resultados obtidos entre estes profissionais e aqueles com até 10 anos de atuação.

Observamos que os enfermeiros e auxiliares de enfermagem apresentaram maior positividade no teste (32% de positividade em ambos), quando comparados aos médicos (24% de positividade), porém não foi evidenciada significância estatística. Pacheco e colaboradores (2013) também não encontraram diferenças estatisticamente significantes ao analisarem a positividade para o *ML-Flow* para as mesmas categorias profissionais, apresentando, entretanto, soropositividade maior entre os enfermeiros (15%), seguida por auxiliares de enfermagem (9%), com menor positividade entre os médicos (4,8%).

Apesar de ter sido evidenciada maior positividade para o teste no grupo de profissionais de saúde que relataram haver trabalhado na assistência a pacientes hansênicos (35%), quando comparado ao grupo que negou esta informação (29%), não observamos significância estatística na comparação, assim como o observado por Calado e colaboradores (2013). Esta observação é discordante do encontrado por Pacheco e colaboradores (2013), que observaram significância estatística ($p=0,004$) na comparação entre os grupos, com 17,4% de positividade entre os profissionais que haviam trabalhado com hanseníase e 7,7% entre os que não haviam trabalhado.

No presente estudo, identificamos significância estatística na correlação entre a positividade para os anticorpos anti-PGL I e o contanto domiciliar com pacientes hansenianos ($p=0,001$), com 5,143 vezes a chance (IC 95% 2,000-13,228) do teste *ML-Flow* ser positivo

em profissionais com contato domiciliar, quando comparado aos sem contato domiciliar com hansenianos.

Esse achado corrobora a teoria amplamente aceita de que os contatos domiciliares de pacientes com hanseníase possuem maior risco de adquirir a doença, assim como justifica as diretrizes para vigilância, atenção e controle da doença, estabelecidas pelo MS, que reforçam a importância do exame clínico dos contatos no controle da endemia (MS, 2010).

A despeito o PGL I ser antígeno específico do *M. leprae*, sendo a possibilidade de reação cruzada remota, a albumina do soro bovino (BSA), conjugada ao PGL I nos testes *ML-Flow* utilizados no presente estudo, poderia determinar a ocorrência de ligações não específicas, resultando em testes falso positivos. Além disso, a presença de anticorpos anti-BSA foi relacionada a algumas doenças em diversos estudos (LERNER e col., 1989; PÉREZ-MACEDA e col., 1991; PARDINI e col., 1996; RODRIGUEZ-JUAN e col., 2003; SU e col., 2008).

Dessa forma, investigamos a presença de AR, DMID, LES, DII e doença celíaca (doenças relacionadas com *ML Flow* falso positivo) entre os profissionais de saúde analisados, não encontrando correlação entre a sua presença a o resultado dos testes *ML Flow*. Entretanto, o baixo número de profissionais que apresentavam essas doenças pode ter dificultado a identificação de uma possível associação.

Paralelamente, avaliamos o consumo de carne bovina, leite e derivados que, como sugeriram Sjöwall e colaboradores (2011), estaria correlacionado com a presença de níveis mais elevados de anti-BSA, o que poderia, por sua vez, resultar em *ML Flow* falso positivo. Também não foi possível associar o consumo dos referidos alimentos com o resultado dos testes *ML Flow* apresentados pelos profissionais de saúde estudados. Porém, mais uma vez, o baixo número de profissionais que negaram o consumo de carne bovina, leite e derivados pode ter exercido influência na ausência de correlação.

7 CONCLUSÃO

Este foi o primeiro estudo a analisar a soroprevalência para o anticorpo anti-PGL I entre profissionais de saúde tanto no HUCAM, quanto no estado do Espírito Santo.

O estudo demonstrou que, dentre os 296 profissionais de saúde (médicos, enfermeiros e auxiliares de enfermagem) analisados, 30,7% apresentaram positividade para o anti-PGL I no teste *ML Flow*.

Foi demonstrada associação ($p=0,001$) entre a positividade para o anti-PGL I e a presença de contato domiciliar com pacientes hansênicos, com 5,143 de chance (IC 95% 2,000-13,228) do teste *ML Flow* ser positivo em profissionais com contato domiciliar, quando comparado aos sem contato domiciliar com hansenianos.

Por sua vez, não foi demonstrada associação entre a positividade para o anti-PGL I e os demais fatores analisados, quais sejam: sexo, profissão, local de trabalho, tempo de atuação, trabalho com pacientes hansênicos, comorbidades relacionadas com *ML-Flow* falso positivo e consumo de carne bovina, leite e derivados.

Por fim, cabe ressaltar que o presente estudo integra um projeto multicêntrico que envolve cidades brasileiras com diferentes taxas de detecção para a hanseníase, e que a análise dos dados gerados de forma integrada possibilitará um melhor entendimento sobre a dinâmica do PGL I entre os profissionais de saúde brasileiros.

A análise das amostras de sangue coletadas entre os profissionais participantes do estudo, para a identificação da presença do anti-PGL I através do teste ELISA, a ser concluída em etapa

posterior, será útil para a identificação da influência do anticorpo anti-BSA na geração de testes *ML-Flow* falso positivos.

8 REFERÊNCIAS

Andrade ARC, Grossi MAF, Bühner-Sékula S, Antunes CMF. Seroprevalence of ML Flow test in leprosy contacts from State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008; 41(Supl II): 56-9.

Bagshawe AF, Garsia RJ, Baumgart K, Astbury L. IgM serum antibodies to phenolic glycolipid-1 and clinical leprosy: two years observation in a community with hyperendemic leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1990; 58(1): 25-30.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico [Internet]. 2013. [acesso em: 15 fev. 2013]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/periodicos/boletim_epidemiologico_numero_3_2013.pdf.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas. Estatísticas de Empreendedorismo 2011. Rio de Janeiro. IBGE. 2013; 44-5.

Brasil MTLRF, Oliveira LR, Rímoli NS, Cavallari S, Gonçalves SO, Lessa ZL, Rotta O. Anti PGL-1 serology and the risk of leprosy in a highly endemic area in the State of São Paulo, Brazil: four-year follow-up. *Rev Bras Epidemiol.* 2003; 6: 262–71.

Brennan PJ. *Mycobacterium leprae* - The outer lipoidal surface. *J. Biosci.* 1984; 6(5): 685–9.

Bühner-Sékula S, Smits HL, Gussenhoven GC, van Leeuwen J, Amador S, Fujiwara T, Klatser PR, Oskam L. Simple and fast lateral flow test for classification of leprosy patients and Identification of contacts with high risk of developing leprosy. *J Clin Microbiol.* 2003; 41 (5): 1991-5.

Bühner-Sékula S, van Beers S, Oskam L, Lecco R, Madeira ES, Dutra MAL, Luis MC; Faber WR; Klatser PR. The relation between seroprevalence of antibodies

against phenolic glycolipid-I among school children and leprosy endemicity in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 4(Supl 2) :81-8.

Calado KLS, Bühner-Sékula S, Vieira AG, Oliveira MLW, Durães S. Positividade sorológica anti PGL-I em contatos domiciliares e peridomiciliares de hanseníase em área urbana. *An Bras Dermatol*. 2005; 80(Supl 3): 301-6.

Calado KLS, Magnanin MMF, Moura RS, Gallo MEN, Bühner-Sékula S, Oliveira MLWR. Serology with ML Flow test in health professionals from three different states of Brazil. *An Bras Dermatol*. 2013; 88(6): 918-23.

Chanteau S, Glaziou P, Plichart C, Luquiaud P, Plichart R, Faucher JF, Cartel JL. Low predictive value of PGL-I serology for the early diagnosis of leprosy in family contacts: results of a 10-year prospective field study in French Polynesia. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1993; 61(4): 533-41.

Cury MRC, Paschoal VA, Nardi SMT, Chierotti AP, Rodrigues Júnior AL, Chiaravalloti-Neto F. Spatial analysis of leprosy incidence and associated socioeconomic factors. *Rev Saúde Publ*. 2012; 46: 110-118.

Hunter SW, Brennan PJ. A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* possibly involved in immunogenicity and pathogenicity. *J. Bacteriol*. 1981; 147: 728-735

Job CK, Jayakumar J, Kearney M, Gillis TP. Transmission of leprosy: a study of skin and nasal secretions of household contacts of leprosy patients using PCR. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 78(3): 518-21.

Kricka LJ. Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem*. 1999; 45(7): 942-56.

Lerner A, Rossi TM, Park B, Albin B, Lebenthal E. Serum antibodies to cow's milk proteins in pediatric inflammatory bowel disease. Crohn's disease versus ulcerative colitis. *Acta Paediatr Scand*. 1989; 78: 384-9.

Limeira OM, Gomes CM, Moraes OO, Cesetti MV, Alvarez RRA. Active search for leprosy cases in Midwestern Brazil: a serological evaluation of asymptomatic household contacts before and after prophylaxis with bacillus Calmette-Guérin. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2013; 55(3): 173-7.

Lobato J, Costa MP, Reis Ede M, Gonçalves MA, Spencer JS, Brennan PJ, Goulart LR, Goulart IM. Comparison of three immunological tests for leprosy diagnosis and detection of subclinical infection. *Lepr Rev*. 2011; 82(4): 389-401.

Madeira ES. Os espaços de transmissão da hanseníase: domicílio, trabalho e relações de vizinhança. [Dissertação Pós-Graduação em Atenção à Saúde Coletiva] Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 2006.

Mogues T, Li J, Coburn J, Kuter DJ. IgG antibodies against bovine serum albumin in humans--their prevalence and response to exposure to bovine serum albumin. *J Immunol Methods*. 2005; 300(1-2): 1-11.

Morgado de Abreu MA, Roselino AM, Enokihara M, Nonogaki S, Prestes-Carneiro LE, Weckx LL, Alchorne MM. *Mycobacterium leprae* is identified in the oral mucosa from paucibacillary and multibacillary leprosy patients. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(1): 59-64.

Moura RS, Calado KL, Oliveira ML, Buhrer-Sékula S. Leprosy serology using PGL-I: a systematic review. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(Supl 2): 11–18.

Moura MLN, Dupnik KM, Sampaio GAA, Nóbrega PFC, Jeronimo AK, Nascimento-Filho JM, Dantas RLM, Queiroz JW, Barbosa JD, Dias G, Jeronimo SMB, Souza MCF, Nobre ML. Active surveillance of hansen's disease (leprosy): importance for case finding among extra-domiciliary contacts. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7(3): e2093.

Ng V, Zanazzi G, Timpl R, Talts JF, Salzer JL, Brennan PJ, Rambukkana A. Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell*. 2000;103(3): 511-24.

OMS. Global Strategy for further reducing the leprosy burden and sustaining leprosy control activities (Plan period: 2011-2015). 2010.

Pacheco SES. Inquérito sorológico para hanseníase em profissionais de saúde de hospitais de referência em Manaus. [Dissertação Pós-Graduação em Medicina Tropical]. Manaus: Universidade Estadual do Amazonas, 2013.

Payne SN, Draper P, Rees RJ. Serological activity of purified glycolipid from *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr Other Mycobact Dis*. 1982; 50: 220-1.

Pardini VC, Ferreira SRG, Vieira JGH, Velho G, Miranda W, Russo EMK. Antibodies to bovine serum albumin in Brazilian children and Young adults with IDDM. *Diabetes Care*. 1996; 19(2): 126-9.

Pérez-Maceda B, López-Bote J, Langa C et al. Antibodies to dietary antigens in rheumatoid arthritis possible molecular mimicry mechanism. *Clin Chim Acta* 1991; 16(2-3): 153-65.

Rambukkana A. Molecular basis for the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Curr Opin Microbiol*. 2001; 4(1): 21-7.

Rodrigues LC, Lockwood DN. Leprosy now: epidemiology, progress, challenges, and research gaps. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11: 464-70.

Rodríguez-Juan C, Sala-Silveira L, Pérez-Blas M, Valeri AP, Aguilera N, López-Santalla M, Fuertes A, Martín-Villa JM. Increased levels of bovine serum albumin antibodies in patients with type 1 diabetes and celiac disease-related antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2003; 37 (2): 132-5.

Rothberg RM, Farr RS. Anti-bovine serum albumin and anti-alpha lactalbumin in the serum of children and adults. *Pediatrics*. 1965; 35: 571-88.

Sampaio SAP, Rivitti EA. *Dermatologia*. São Paulo: Artes Médicas. 3ª ed. 2008.

Sampaio PB, Rossi TL, Cerutti Junior C, Zandonade E. Spatial analysis of new cases of leprosy in the State of Espírito Santo, Brazil, between 2004 and 2009. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012; 45(3): 380-4.

Schuring RP, Moet FJ, Pahan D, Richardus JH, Oskam L. Association between anti-pGL-I IgM and clinical and demographic parameters in leprosy. *Lepr Rev*. 2006; 77(4): 343-55.

Scollard DM, Adams LB, Gillis TP, Krahenbuhl JL, Truman RT, Williams DL. The Continuing Challenges of Leprosy. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19: 338-81.

Sinha S, Kannan S, Nagaraju B, Sengupta U, DGupte MD. Utility of serodiagnostic tests for leprosy: a study in an endemic population in South India. *Lepr Rev*. 2004; 75: 266-73.

Sjöwall C, Kastbom A, Almroth G, Wetterö J, Skogh T. Beware of antibodies to dietary proteins in "antigen-specific" immunoassays! falsely positive anticytokine antibody tests due to reactivity with bovine serum albumin in rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *J Rheumatol*. 2011; 38(2): 215-20.

Su J, Hua X, Concha H, Svenungsson E, Cederholm A, Frostegård J. Natural antibodies against phosphorylcholine as potential protective factors in SLE. *Rheumatol*. 2008; 47: 1144-50.

Talhari S, Neves RG, Penna GO, Oliveira MLW. *Hanseníase*. Manaus. Brasil. 4ª ed. 2006.

van Beers SM, Izumi S, Madjid B, Maeda Y, Day R, Klatser PR. An epidemiological study of leprosy infection by serology and polymerase chain reaction. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1994; 62: 1-9.

Vissa VD, Brennan PJ. The genome of *Mycobacterium leprae*: a minimal mycobacterial gene set. *Genome Biol.* 2001; 2(8): reviews1023.1–8.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Sr. (a) Profissional de Saúde,

A hanseníase é uma doença infectocontagiosa, crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, que atinge a pele e nervos periféricos, podendo causar deformidades físicas. É transmitida pelas vias aéreas superiores através de uma pessoa doente que está sem tratamento. Como o período de incubação é longo (dois a cinco anos), podemos encontrar portadores assintomáticos como fonte de infecção.

Quanto mais próxima a convivência com o doente bacilífero, maiores são as chances de ser infectado.

Nós, profissionais de saúde, estamos expostos ao longo de nossa carreira a doentes com hanseníase e portadores assintomáticos. Pessoas expostas ao *M. leprae* desenvolvem anticorpos contra o PGL-1 (glicolípido fenólico 1), antígeno específico do *M. leprae*. A produção dos anticorpos é diretamente proporcional à carga bacilar.

Por isso, estamos realizando o teste sorológico com *ML Flow* em profissionais de saúde que trabalha/trabalharam com pacientes com hanseníase e também naqueles que não trabalham/trabalharam com pacientes de hanseníase no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes.

É necessário 5µl de sangue obtido da polpa do segundo dedo da mão para a realização do teste sorológico e a leitura se faz em 5 minutos.

Caso o resultado do seu teste seja positivo, isso não significa que esteja doente e sim que entrou em contato com *M. leprae*. Você será acompanhado clinicamente e orientado a procurar um Posto de Saúde caso apareçam manchas brancas ou vermelhas com alteração de sensibilidade, caroços e dormência nas mãos e pés.

Caso o seu resultado seja negativo, mas você trabalha/trabalhou com pacientes de hanseníase ou mora em área endêmica, você também será acompanhado clinicamente se assim o desejar.

O sigilo dos resultados será mantido, seguindo a regulamentação ética das pesquisas envolvendo seres humanos.

Caso exista qualquer dúvida, os pesquisadores responsáveis poderão esclarecer.

Pesquisadores: Dra. Luana Gomes Landeiro - tel: (27) 9848-4133

Dra. Lucia Martins Diniz – tel: (27) 3335-7224

Autorizo a realização do teste sorológico *ML Flow*

Profissão: _____

Data: ____/____/____

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE PARTICIPANTES

Universidade Federal do Espírito Santo Programa de Mestrado Profissional em Medicina Inquérito Sorológico para Hanseníase em Profissionais de Saúde no Hospital Universitário Cassiano Antônio Moraes

Nº ____ Data: ____/____/____

IDENTIFICAÇÃO PESSOAL

Nome: _____		Fone: _____	
Tempo de atuação: _____	Idade: _____	DN: ____/____/____	Sexo: M (<input type="checkbox"/>) F (<input type="checkbox"/>)
Naturalidade: _____ (Há quanto tempo? _____)	Reside em: _____	Bairro: _____	
Profissão: 1.(<input type="checkbox"/>) Médico 2.(<input type="checkbox"/>) Enfermeiro 3.(<input type="checkbox"/>) Auxiliar/Técnico de Enfermagem			

QUESTIONÁRIO

1- Trabalha / trabalhou com hanseníase? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Caso sim: Durante quanto tempo? _____
--

2- Contato pessoal com história de hanseníase? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Quem? 1.(<input type="checkbox"/>) Pai 2.(<input type="checkbox"/>) Mãe 3.(<input type="checkbox"/>) Conjugue 4.(<input type="checkbox"/>) Filho 5.(<input type="checkbox"/>) Outro _____ Tempo de contato: 1.(<input type="checkbox"/>) Menos de 1 ano 2.(<input type="checkbox"/>) 1 a 3 anos 3.(<input type="checkbox"/>) Mais de 3 anos 1.(<input type="checkbox"/>) Tratada 2.(<input type="checkbox"/>) Em tratamento 3.(<input type="checkbox"/>) Sem tratamento Duração do tratamento: _____ Tipo de tratamento: _____ Reside/residiu na mesma casa? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Por quanto tempo? _____
--

3- História Pessoal: Cicatriz de BCG: 1.(<input type="checkbox"/>) Nenhuma 2.(<input type="checkbox"/>) Uma 3.(<input type="checkbox"/>) Duas Comorbidades: 1.(<input type="checkbox"/>) Hipertensão Arterial 2.(<input type="checkbox"/>) Diabetes 3.(<input type="checkbox"/>) Tuberculose 4.(<input type="checkbox"/>) Hepatite____ 5.(<input type="checkbox"/>) Outra _____ Uso de Corticoterapia Sistêmica: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Uso de Imunossupressor: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Uso de Biológicos: 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não

4- Hábitos Sociais: Consome bebida alcoólica? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Com que frequência? _____ Fuma? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não Quantidade de cigarros por dia: _____ Faz uso de drogas ilícitas? 1.(<input type="checkbox"/>) Sim 2.(<input type="checkbox"/>) Não

Quais? _____
 Com que frequência? _____

5- Função/ Atuação setorial (marcar todas as áreas em que atuar):

Profissão	Ambulatório Hanseníase	Ambulatório Geral	Enfermaria	Emergência
Médico				
Enfermeiro				
Técnico/Auxiliar Enfermagem				

5- Hábitos Alimentares:

Tipo de Proteína	Semanal	Mensal	Raramente	Não come
1. Come carne bovina				
2. Ingere leite e/ou derivados (ex: queijo)				
3. Come carne de porco				
4. Come frango				
5. Come peixe				
6. Come carne de tatu				

PGL-1 positivo: 1. () positivo 2. () negativo 3. () duvidoso 4. () não reagente

Positivo: 1. () + 2. () ++ 3. () +++ 4. () ++++

APÊNDICE C

PROTOCOLO PARA COLETA DE SANGUE

- 1) Preparar, na bandeja, o material para a coleta de sangue: compressa de álcool; lanceta; tubo capilar; curativo aderente.
- 2) Abrir a embalagem da compressa de álcool.
- 3) Utilizar a compressa de álcool para desinfetar a ponta do quarto dedo esquerdo (ou da mão direita, se o indivíduo for canhoto).
- 4) Fazer uma punção no dedo com a lanceta e colocar imediatamente a lanceta dentro da recipiente para descarte de materiais perfurocortantes.
- 5) Tocar com a ponta do tubo capilar o sangue do dedo e coletar 5 microlitros de sangue com este tubo (corresponderá a 0,5 cm). Utilizar este sangue imediatamente para fazer o teste *ML-Flow*.
- 6) Pressionar o dedo puncionado e coletar 30 microlitros de sangue, encostando as gotículas formadas nos três círculos do cartão de papel de filtro Whatman nº 3.
- 7) Limpar o dedo espetado com a compressa de álcool, colocar o curativo aderente no dedo e pedir à pessoa para comprimi-lo por um minuto, a fim de parar o sangramento.

ANEXO A

PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP DO CCS/UFES



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 27 de outubro de 2011.

De: Prof. Dr. Adauto Emmerich Oliveira
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde

Para: Prof. (a) Lúcia Martins Diniz
Pesquisador (a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado **"Inquérito Sorológico em profissionais de saúde de diferentes regiões endêmicas para Hanseníase."**

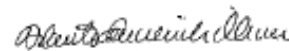
Senhor (a) Pesquisador (a),

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. 239/11 intitulado **"Inquérito Sorológico em profissionais de saúde de diferentes regiões endêmicas para Hanseníase"** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 26 de outubro de 2011.

Lembramos que, cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra "c".



Atenciosamente,


Coordenador do
Comitê de Ética em Pesquisa
CEPIUFES